

# Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2016

В. А. Куркин, А. А. Шмыгарева, Т. К. Рязанова, А. Н. Саньков

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ АНТРАХИНОНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ В ЛЕКАРСТВЕННОМ ПРЕПАРАТЕ “СЕННЫ СИРОП”

Самарский государственный медицинский университет, Россия, Самара;  
e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Разработана методика количественного определения суммы антрахиноновых гликозидов в лекарственном препарате “Сенны сироп” с использованием метода прямой спектрофотометрии при аналитической длине волны 530 нм. Обоснована технологическая схема получения сиропа сенны на основе отвара листьев сенны (*Cassia acutifolia* Del.).

**Ключевые слова:** сенна; кассия остролистная; *Cassia acutifolia* Del.; сироп сенны; антраценпроизводные; сеннозид В; спектрофотометрия; стандартизация.

В медицинской практике широко применяются лекарственные препараты на основе сырья кассии остролистной (*Cassia acutifolia* Del.) или сенны александрийской (*Senna alexandrina* Mill.) и кассии узколистной (*Cassia angustifolia* Vahl.), содержащие антраценпроизводные [1 – 4]. Слабительное действие препаратов листьев кассии обуславливают гликозиды антрахинонов (сеннозиды) [2 – 5].

В Российской Федерации ассортимент слабительных лекарственных средств на основе сенны представлен преимущественно в виде таких лекарственных форм, как таблетки (антрасеннин, сенадексин, сеналакс, пурсенид), брикеты (кафиол), кубики (регулак), настоек, однако проблема создания новых лекарственных форм по-прежнему остается актуальной. Данное обстоятельство свидетельствует об актуальности создания новых лекарственных форм, в частности, сиропа, отсутствующей на фармацевтическом рынке РФ. Преимущество данной лекарственной формы заключается в том, что она является перспективной как в педиатрии, так и в гериатрической практике, когда имеет место нарушение глотательного рефлекса.

Кроме того, одной из актуальных проблем является несоответствие подходов к стандартизации сырья кассии, используемых в отечественной и зарубежных фармакопеях [6, 7]. Так, фармакопейная статья на листья сенны (ГФ СССР XIII издания) включает раздел “Качественные реакции”, однако он не предусматривает применение тонкослойной хроматографии (ТСХ) [6]. В этом отношении имеется зарубежный опыт применения (ТСХ) [7], однако, на наш взгляд, его тоже нельзя признать удачным. Дело в том, что в этом случае для определения подлинности сырья используется в качестве стандарта экстракт сенны, что не позволяет проводить интерпретацию результатов с точки зрения конкретных значений  $R_f$  для диагностических веществ. Целесообразность внедрения новых современ-

ных методов анализа связана еще и с тем, что в существующих подходах к анализу не в полной мере используется все разнообразие химического состава сырья кассии [8 – 10]. В разработанной нами методике ТСХ-анализа для целей идентификации рекомендовано использовать не только сеннозиды, но и другие выделенные доминирующие вещества — 1,7-дигидрокси-3-карбоксиянтрахинон, 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (производное нафталина) и 3-О-гентиобиозид кемпферола (флавоноид), являющиеся диагностическими компонентами [11].

Методики количественного определения суммы антраценпроизводных в листьях кассии [6, 7] также имеют ряд недостатков: являются громоздкими, многостадийными и небезопасными, включающими такие стадии, как кислотный гидролиз, многократную экстракцию сырья, обработку диэтиловым эфиром — легкокипящим огнеопасным растворителем. Кроме того, в методике используется фотоэлектроколориметрия, предусматривающая измерение оптической плотности при аналитической длине волны при 523 нм, а расчет содержания суммы производных антрацена осуществляется с использованием построения громоздкого калибровочного графика раствора кобальта хлорида в пересчете на хризофановую кислоту. Методики количественного определения антраценпроизводных, включенные в зарубежные фармакопеи, с точки зрения пробоподготовки сопоставимы с ГФ СССР XIII издания и отличаются только значением используемой аналитической длины волны (515 нм вместо 523 нм) и подходом, предусматривающим расчет содержания на сеннозид В [7].

Цель настоящих исследований — разработка состава, технологии сиропа сенны, а также методики количественного определения суммы антрахиноновых гликозидов в данной лекарственной форме.

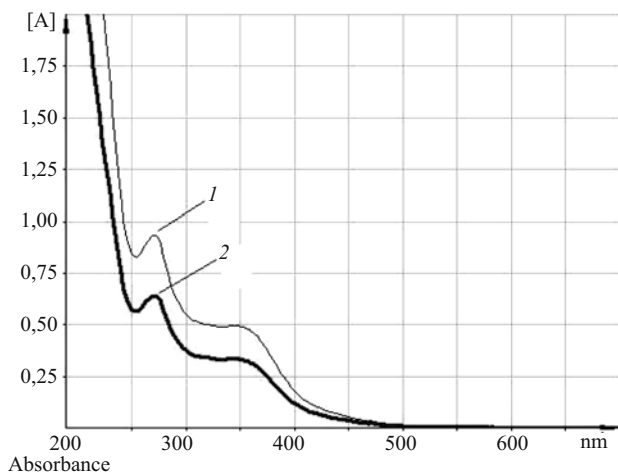


Рис. 1. Электронные спектры раствора водного извлечения из листьев сенны (1) раствора сиропа сенны (2).

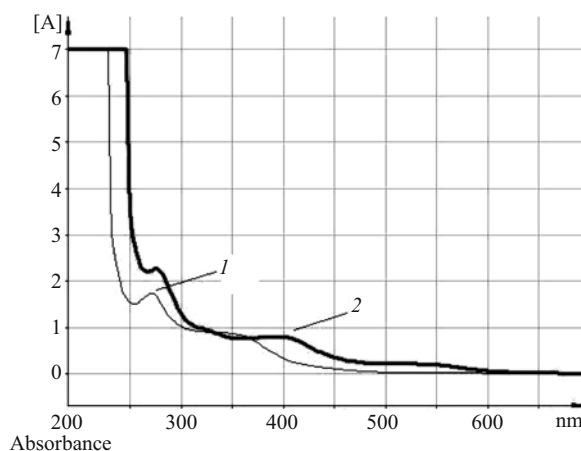


Рис. 2. Электронные спектры раствора сиропа сенны (1) и щелочно-аммиачного раствора сиропа сенны (2).

### Экспериментальная часть

В ходе ранее проведенных исследований нами были обоснованы методические подходы к стандартизации листьев сенны по содержанию суммы антрахиноновых гликозидов в пересчете на сеннозид В, заключающиеся в экстракции сырья 70 % этиловым спиртом, последующем получении окрашенного комплекса в среде щелочно-аммиачного раствора без использования при этом таких стадий, как многократная экстракция сырья, кислотный гидролиз, обработка диэтиловым эфиром, построение громоздкого калибровочного графика раствора кобальта хлорида [11]. Принимая во внимание принцип унификации методов анализа в ряду “сырье — препарат” [12], данные подходы к стандартизации были использованы для разработки методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сиропе сенны.

Объектами исследования являлись промышленные образцы листьев сенны (производители ЗАО “Иван-Чай”, серия 010714; ОАО “Красногорсклекарств”, серия 141014; страна происхождения сырья — Республика Казахстан), которые соответствовали требованиям ГФ СССР XI издания, в том числе по содержанию суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту (не менее 1,35 %) [11]. Исследовали также сиропы, полученные на основе водных извлечений из листьев сенны. Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра “Specord 40” (Analytik Jena) в диапазоне длин волн 190 – 700 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Таблица 1

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сиропе сенны

$n$	$f$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P, f)$	$\Delta X$	$E, \%$
11	10	0,055	0,0010	95	2,23	$\pm 0,0023$	$\pm 4,17$

Изготовление сиропа в лабораторных условиях начинали с получения отвара из листьев сенны, измельченных до размера частиц диаметром 2 мм, с использованием соотношения “сырье — экстрагент” (1:7). Первый образец отвара готовили фармакопейным методом [6]: известное количество сырья заливали определенным количеством воды очищенной комнатной температуры, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр (марки “красная лента”). С целью сравнения влияния жесткого нагрева на выход антраценпроизводных из сырья и их стабильность во втором случае водное извлечение (1:7) получали кипячением в течение 15 – 20 мин на плитке сырья в определенном объеме воды очищенной с последующим охлаждением до комнатной температуры и фильтрованием через бумажный фильтр (марки “красная лента”). При этом с использованием методики ТСХ-анализа [11] осуществляли постадийный контроль содержания агликонов в извлечении, доля которых не увеличивалась.

Полученные водные извлечения из листьев сенны использовали для получения сахарных сиропов фармакопейным способом [13]. Для этого 36 г водных извлечений смешивали с 64 г сахара-рафинада и нагревали смесь до полного растворения сахара, доводили до кипения дважды, каждый раз снимая образующую

Таблица 2

Содержание суммы антрахиноновых гликозидов в образцах отвара листьев сенны \*

№ п/п	Отвар, из которого получен сироп	Содержание суммы антраценпроизводных в препарате пересчете на сеннозид В, %	Выход антраценпроизводных по отношению к их содержанию в исходном сырье, %
1.	Отвар 1:7	$0,118 \pm 0,002$	46,61
2.	Отвар 1:7 (кипячение на плитке)	$0,174 \pm 0,003$	69,09

Содержание суммы антраценпроизводных в исходном сырье составляет  $(1,76 \pm 0,02) \%$ .

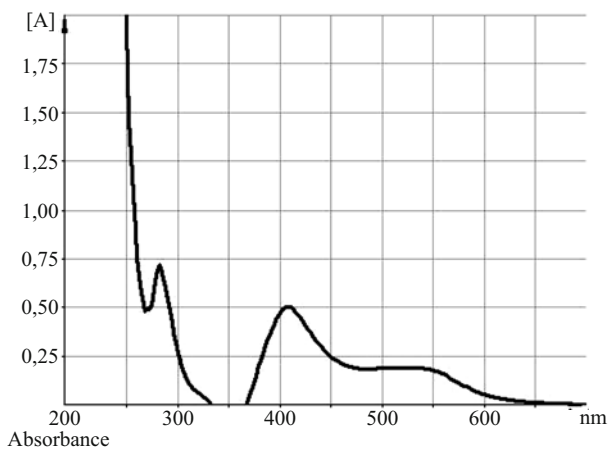


Рис. 3. Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора сиропа сенны (дифференциальный вариант).

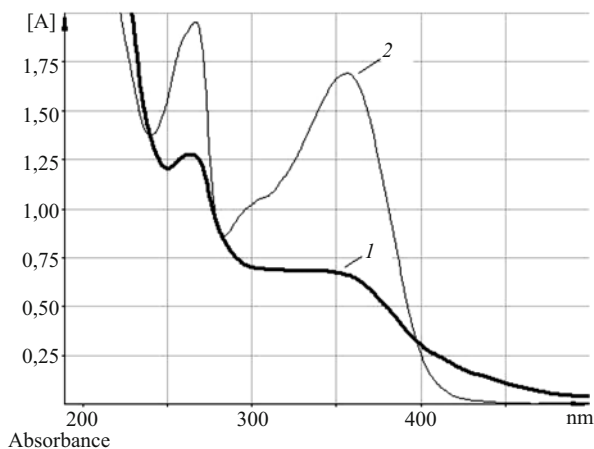


Рис. 4. Электронные спектры раствора сиропа сенны (1) и раствора кемпферол-3-О-гентиобиозида (2).

ся при этом пену и удаляя ее. Сиропы фильтровали через марлю в горячем виде и доводили до исходной массы водой очищенной. Экспериментально приготовленный сироп сенны прозрачен и имеет золотисто-желтый цвет. В общей сложности получены 4 серии образцов отваров с использованием фармакопейных методов и в условиях кипячения сырья, и из каждой серии приготовлено по 3 образца сиропа сенны.

С целью изучения УФ-спектров полученных сиропов в щелочно-аммиачной среде и количественного определения суммы антрахиноновых гликозидов точную навеску сиропа (2,0 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили водой до метки и перемешивали (исходный раствор). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 2 мл полученного раствора и доводили до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор). Испытуемый раствор нагревали в течение 15 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения снимали электронный спектр испытуемого раствора в диапазоне 190 – 700 нм. Для получения дифференциальных электронных спектров в качестве раствора сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 2 мл исходного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем водой очищенной до метки.

Для количественного определения антраценпроизводных в исследуемых образцах листьев сенны использовали разработанную ранее методику (экстрагент — 70 % этиловый спирт, соотношение “сырье — экстрагент” 1:50, время экстракции — 60 мин) [11].

Исследование электронных спектров показало, что электронные спектры сиропа сенны совпадают со спектрами водного извлечения из листьев сенны (рис. 1), а максимум поглощения для щелочно-аммиачного раствора находится при  $(530 \pm 3)$  нм (рис. 2), что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из листьев сенны [11].

Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 530 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид — сеннозид В, причем в случае

отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ( $E_{1\text{см}}^{1\%} = 240$ ).

Важно также отметить, что в условиях прямой спектрофотометрии (рис. 2) и дифференциальной спектрофотометрии (рис. 3) получены сопоставимые значения оптической плотности, свидетельствующие о возможности использования обоих вариантов в методике количественного определения суммы антраценпроизводных. В качестве методического решения выбран более простой вариант — прямая спектрофотометрия, как и в случае листьев кассии [11], а также сиропа крушины [14].

Заслуживает внимания и тот факт, что характер кривой поглощения раствора сиропа в основном обуславливают флавоноиды (рис. 4), в частности, выделенный нами кемпферол-3-О-гентиобиозид [11], хотя определенный вклад вносят и другие компоненты — сеннозиды, 1,7-дигидрокси-3-карбоксиянтрахинон (неореин), 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (производное нафталина). Следовательно, максимумы кривой поглощения УФ-спектра (максимумы поглощения около 270 и 350 нм), характерные для водно-спиртовых извлечений листьев кассии, могут быть успешно использованы для целей идентификации данного сырья (раздел “Качественные реакции”).

**Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны.** В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5,0 г сиропа (точная навеска), доводят объем водой очищенной до метки и перемешивают (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл вносят 2 мл раствора А, доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с ГФ СССР XIII издания [6], и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Содержание суммы антраценпроизводных ( $X$ ) в сиропе сенны в пересчете на сеннозид В в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 25}{m \cdot 5 \cdot 2 \cdot 240},$$

где  $D$  — оптическая плотность испытуемого раствора;  $m$  — масса навески сиропа, г; 240 — удельный показатель поглощения ( $E_{1\text{см}}^{1\%}$ ) щелочно-аммиачного раствора рабочего стандартного образца (PCO) сеннозида В при 530 нм.

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны с доверительной вероятностью 95 % составляет  $\pm 4,17\%$ .

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы антраценпроизводных в сиропе сенны представлены в табл. 1. С использованием различных разведений образцов сиропа сенны определено, что диапазон линейности выдерживается в интервале значений оптической плотности от 0,1 до 0,9, что обеспечивает достоверные результаты в диапазоне концентраций антраценпроизводных в сиропе от 0,02 до 0,23 %.

Определено, что содержание суммы антраценпроизводных в сиропе сенны (в пересчете на сеннозид В) варьирует от  $(0,026 \pm 0,001)\%$  (на основе отвара, полученного в соответствии с ГФ СССР XIII издания) до  $(0,055 \pm 0,002)\%$  (на основе отвара, полученного с использованием кипячения). С учетом содержания суммы антраценпроизводных в исследуемом сырье (1,68 %) выход антраценпроизводных из сырья сенны в случае использования режима кипячения в 1,5 раза был выше по сравнению с фармакопейным методом (табл. 2).

Таким образом, в ходе исследования разработана методика количественного определения суммы антра-

ценпроизводных в сиропе сенны и обосновано использование отвара, приготовленного в условиях кипячения в воде очищенной в соотношении “сырье — экстрагент” 1:7, в качестве субстанции для получения данной лекарственной формы.

Содержание суммы антрахиноновых гликозидов образцах сиропа сенны варьирует от  $(0,026 \pm 0,001)\%$  до  $(0,055 \pm 0,002)\%$ .

## ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный реестр лекарственных средств, Т. 1, Официальное издание, Москва (2008).
2. В. А. Куркин, *Фармакогнозия*, Самара (2007), сс. 903 – 906.
3. В. А. Куркин, *Основы фитотерапии*, Самара (2009), сс. 495 – 497.
4. Д. А. Муравьева, И. А. Самылина, Г. П. Яковлев, *Фармакогнозия*, Москва (2002), сс. 523 – 527.
5. Н. Dave, L. Ledwani, *Indian J. Nat. Prod. Resources*, **3**(3), 291 – 319 (2012).
6. Государственная фармакопея СССР, Изд. XIII, Том. 3, Министерство здравоохранения РФ, Москва (2015), с. 624.
7. *European Pharmacopoeia*, 6-th Ed., United States Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville (2008).
8. L. O. Demirezer, N. Karahan, E. Ucakturk, et al., *Rec. Nat. Prod.*, **5**(4), 261 – 270 (2011).
9. A. Sakulpanich, W. Gritsanapan, *Int. J. Biomed. Pharm. Sci.*, **3**(1), 42 – 45 (2009).
10. A. Upadhyay, Yo. Chandel, P. S. Nayak, N. A. Khan, *J. Stored Products Postharvest Res.*, **2**(5), 97 – 103 (2011).
11. V. A. Kurkin, A. A. Shmygareva, *J. Pharmacognosy Phytotchem.*, **3**(3), 163 – 167 (2014).
12. И. А. Самылина, И. А. Баландина И. А., *Фармация*, **52**(2), 39 – 41 (2004).
13. В. И. Чуешов, М. Ю. Чернов, Л. М., Хохлова и др., *Промышленная технология лекарств*, Т. 2, Харьков (1999), сс. 65 – 67.
14. В. А. Куркин, А. А. Шмыгарева, Т. К. Рязанова, А. Н. Саньков, *Хим.-фарм. журн.*, **48**(7), 41 – 43 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(7), 467 – 469 (2014).

Поступила 17.02.15

## QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL ANTHRAQUINONE GLYCOSIDES IN CASSIA SYRUP PREPARATION

V. A. Kurkin\*, A. A. Shmygareva, T. K. Ryazanova, and A. N. San'kov

Samara State Medical University, Samara, 443099 Russia;

\* e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Previously we developed the composition and technology of “Cassia Syrup” prepared as decoction from the leaves of *Cassia acutifolia* Del. In the present study, we have developed a method for the quantitative determination of total anthraquinone glycosides (TAG) recalculated for sennoside B in the phytopharmaceutical, which is based on direct spectrophotometry at analytical wavelength of 530 nm. The relative error of TAG determination by the proposed method at confidence probability 0.95 does not exceed 4.17%. The TAG content in the samples of “Cassia Syrup” varies from  $0.026 \pm 0.001\%$  to  $0.055 \pm 0.002\%$ .

**Keywords:** *Senna* sp.; *Cassia acutifolia* Del.; leaves; cassia syrup; anthracene derivatives; sennoside B; spectrophotometry; standardization.